

## **Bericht zur Tagung des Arbeitskreises „Medizinische Arachno-Entomologie“ (Tagung der Deutschen Gesellschaft für Medizinische Entomologie und Acarologie (DGME Ae.V.) vom 20. bis 22. September in Leipzig**

Die Tagung 2011 fand in Leipzig statt und wurde von Prof. Dr. Martin Pfeffer (Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig) ausgerichtet. Insgesamt nahmen knapp 70 Personen, v.a. aus Universitäten und staatlichen Instituten, aber auch der Industrie und privaten Institutionen teil. Schwerpunkt der Tagung war das Thema „Mücken – Culicidae“. Die Tagung begann mit einer Exkursion in den südlichen Auwald von Leipzig, einem Biotop, dessen Culicidenfauna schon in den 1950er Jahren intensiv untersucht und beschrieben wurde. Mit Hilfe der am Vortag ausgebrachten Ovitrapps und CDC Light Traps wurden die methodischen Möglichkeiten des Mücken-Monitorings im Feld praktisch demonstriert.

In einem Einführungsvortrag stellte Dr. J.O. Lundström (Uppsala, Schweden) die Rolle der Mücken als Überträger von Pathogenen in Europa vor, insbesondere die Mückenpopulationen der Feucht- und Flussgebiete verschiedener Standorte Zentralschwedens und deren Einfluss bei der Übertragung von Krankheiten auf den Menschen und die Vogelfauna. Prof. Dr. H. Aspöck (Wien) gab einen ausführlichen Überblick über die Anfänge der Erforschung der Stechmücken als Überträger von Arboviren in Mitteleuropa und stellte die Bedeutung der durch Mücken übertragenen Viren zum heutigen Zeitpunkt dar. Frau H. Jöst präsentierte die 2009 und 2010 erzielten Ergebnisse der Mücken-Monitoring- und Arbovirus-Überwachungsprogramme der KABS (Kommunale Aktionsgemeinschaft zur Bekämpfung der Schnakenplage, Waldsee) und des Bernhard-Nocht-Institutes für Tropenmedizin in Hamburg.

Ausgehend von Stechmückenplagen in den Naturschutzgebieten der Ostfriesischen Inseln und ihrer negativen Auswirkungen auf den Tourismus wurde der Konflikt zwischen der Mückenbekämpfung und den Belangen des Naturschutzes von Herrn R. Lühken (Oldenburg) dargestellt. Zwei Vorträge (M. Marklewitz, Dr. S. Junglen; Bonn) befassten sich mit den Mückenpopulationen tropischer Regenwälder im Vergleich zu nahegelegenen, landwirtschaftlich genutzten Flächen und Dörfern sowie der Bedeutung der Mücken als Überträger verschiedener Arboviren. Dr. M. Geier (Regensburg) stellte die Vor- und Nachteile verschiedener Methoden des Mücken-Monitorings vor.

Hamburg ist als „Tor zur Welt“ für die Einschleppung von exotischen Mückenarten prädestiniert. An verschiedenen Standorten am Flughafen, in einem Blumengroßmarkt sowie auf einer Autobahnraststätte wurden daher Ovitrapps über einen Zeitraum von bis zu drei Jahren aufgestellt. Die Ergebnisse wurden von Dr. A. Krüger (Hamburg) präsentiert. Mutationen bei den von Dr. B. Kümmerer (Bonn) beschriebenen rekombinanten Viren werden zur Analyse der Vektorkompetenz dienen. Der derzeitige Kenntnisstand zur Virus-spezifischen Immunabwehr bei Arthropoden wurde von Dr. S. Müller (Hamburg) am Model der Fruchtfliege (*Drosophila melanogaster*) vorgestellt. Die Bedeutung der Wintertemperaturen für die Begrenzung der weiteren Ausbreitung der Asiatischen Tigermücke (*Aedes albopictus*) sowie mögliche Risikogebiete wurden von Frau S. Thomas

(Bayreuth) vorgetragen. Frau K. Huber stellte die aktuellen Ergebnisse der Ausbreitung von *Aedes albopictus* und *Ochlerotatus japonicus* in Deutschland vor.

Frau F. Stürzl (Frankfurt) berichtete über die Prävalenz humanpathogener Mikroorganismen (speziell Borrelien und FSME-Virus) in den Zeckenarten *Ixodes ricinus* (Gemeiner Holzbock) im Rhein-Main-Gebiet und *Ixodes persulcatus* (Taigazecke) in Ost-Kasachstan. Dr. B. Habedank (Berlin) präsentierte neue Ergebnisse zur Residualwirkung verschiedener Insektizide (Pyrethroide, Carbamate und Pyrrol) gegen Bettwanzen (*Cimex lectularius*). Beim gemütlichen Beisammensein am Abend in der Gaststätte mit dem passenden Namen „Mückenschlösschen“ wurden die Diskussionen fortgesetzt.

Zu den Themen „Monitoring von Mücken“, „Zucht und Vektorkompetenzstudien“ und „Bekämpfung“ wurden Diskussionsrunden durchgeführt, in denen der derzeitige Kenntnisstand zusammengefasst und weitere Aktivitäten besprochen wurden. Bestimmungsübungen an mitteleuropäischen Arten der Familie Culicidae, die von M. Beck, W.P. Pfitzner und A. Jöst KABS) durchgeführt wurden, sowie ein Vergleich der Bestimmungsmerkmale von *Culex pipiens pipiens* versus *Culex pipiens torrentium* von Dr. A. Krüger rundeten die Tagung ab.

Vorstand der DGMEA

## Mosquitoes and mosquito-borne infections.

JAN O. LUNDSTRÖM

([Jan.Lundstrom@ebc.uu.se](mailto:Jan.Lundstrom@ebc.uu.se)), Mosquito and Environment Group

(<http://ebc.uu.se/Research/IEG/popbiol/Research/MosquitoEnvironmentGroup/>), Uppsala University, Uppsala, Sweden.

Mosquitoes are the identified or suggested vectors of viruses, filarial, protozoa and bacteria, and as such the most deadly and interesting family of insects. In a European context, the focus is on the bird-associated mosquito-borne viruses and the suggested mosquito-borne bacteria *Francisella tularensis holarctica*. The bird-associated mosquito-borne viruses Sindbis virus (SINV), West Nile virus (WNV), Usutu virus, and Lednice virus are presently known in Europe and the first three are known human pathogens, with WNV also causing disease in horses and Usutu causing disease in birds. The enzootic vectors of these viruses are ornithophilic mosquitoes of the genus and sub-genus *Culex* (*Culex*) that includes seven species (*Cx (Cx) brumpti*, *Cx (Cx) laticinctus*, *Cx (Cx) mimeticus*, *Cx (Cx) perexiguus*, *Cx (Cx) pipiens*, *Cx (Cx) torrentium*, *Cx (Cx) theileri*) in the European region. The enzootic transmission among birds is crucial for occurrence of the mosquito-borne viruses. Thus, defining the enzootic vector species and its geographic distribution are key factors for understanding the ecology, epidemiology and geography of these viruses.

The results from previous investigations on vectors and hosts of WNV and SINV in South Africa and Israel could be used as a guidance towards the identification of the enzootic vector(s) of WNV in Europe. These studies show that *Cx (Cx) pipiens* is naturally infected with WNV, but that the Field Infection Rate (FIR) is much higher in another *Cx (Cx)* species - for WNV 112 times higher in South Africa and 7 times higher in Israel, and for SINV 52 times higher in South Africa and 13 times higher in Israel. In South Africa *Cx (Cx) univittatus* is the enzootic vector for both viruses, while *Cx (Cx) pipiens* may function as a bridge-vector due to its feeding on both birds and mammals. In Israel *Cx (Cx) perexiguus* is the enzootic vector of both viruses, while *Cx (Cx) pipiens* may function as a bridge-vector due to its feeding on both birds and mammals. SINV occur together with WNV in both countries and was shown to be ecologically similar using the same species as enzootic vectors, and this provides an interesting opportunity for reducing the amount of work for identifying the enzootic vector(s) of WNV in Europe. Detailed studies in Sweden have shown that *Cx (Cx) torrentium* is the enzootic vector for SINV, while *Cx (Cx) pipiens* is a much less competent vector for SINV. Thus, based on the ecological similarities between SINV and WNV, I suggest that *Cx (Cx) pipiens* play only a minor role in the ecology of WNV in Europe, and that *Cx (Cx) univittatus*, *Cx (Cx) perexiguus*, and/or *Cx (Cx) torrentium* are the enzootic vectors for WNV in Europe. Sampling of these ornithophilic mosquitoes, secure species identification of female mosquitoes, and virus detection/isolation from species identified female are important. Equally important is that the vector competence of the identified potential vectors is verified in vector competence experiments.

## **Die Anfänge der Erforschung von Stechmücken als Überträger von Arboviren in Mitteleuropa**

HORST ASPÖCK

*Institut für Spezifische Prophylaxe und Tropenmedizin, Medizinische Parasitologie,  
Medizinische Universität Wien (MUW), Kinderspitalgasse 15, A-1095 Wien*

Im Jahre 1949 wurde erstmals in Mitteleuropa ein Arbovirus aus Arthropoden – und zwar aus Zecken – isoliert; es handelte sich dabei um das Virus der Frühsommer-Meningoenzephalitis (TBE-Virus), das beim Menschen schwere Erkrankungen des ZNS hervorrufen kann. So war es naheliegend zu untersuchen, ob auch Culiciden in Mitteleuropa als Vektoren von (humanpathogenen) Viren fungieren können. Diese Fragestellung erhielt zudem Auftrieb durch das gehäufte Auftreten ungeklärter fieberhafter Infekte während der Sommermonate in manchen Teilen Mitteleuropas mit Massentwicklung von Stechmücken. Den Bemühungen kam zugute, dass geradezu weltweit in den 1950er Jahren ein „goldenes Zeitalter“ der Arbovirus-Forschung anbrach und dass in vielen Ländern auch Freilanduntersuchungen mit dem Ziel der Isolierung von Arboviren aus Arthropoden durchgeführt wurden. In Mitteleuropa wurden solche Untersuchungen erstmals 1958 in der Slowakei durchgeführt. Sie führten innerhalb von vier Jahren zur Isolierung von zwei Viren, die nach den Orten der Isolierung Ťahyňa-Virus bzw. Čalovo-Virus genannt wurden (4, 3). Dies war der Anstoß für weitere intensive und extensive Forschungsarbeiten über Vorkommen, Ökologie, Epidemiologie und klinische Bedeutung der durch Culiciden übertragenen Viren in Mitteleuropa – zunächst in verschiedenen Teilen der Tschechoslowakei, bald aber auch in Österreich, wo 1964 die erste Isolierung des Ťahyňa-Virus und kurze Zeit später auch des Čalovo-Virus in zahlreichen Stämmen gelang (1, 2). Die folgenden Jahre führten zur Isolierung weiterer durch Stechmücken übertragener Arboviren in verschiedenen Teilen Mitteleuropas (5). Eine neue Disziplin der medizinisch-entomologischen Forschung in Mitteleuropa hatte ihren Anfang genommen. Heute wissen wir, dass die durch Arthropoden übertragenen Viren mit Sicherheit auch in den nächsten Jahrzehnten die weitaus gewichtigste Herausforderung an die Medizinische Arachnoentomologie in Mitteleuropa und darüber hinaus in Europa und in vielen anderen Teilen der Erde stellen werden.

1. ASPÖCK H. & CH. KUNZ (1966): Isolierung des Ťahyňa-Virus aus Stechmücken in Österreich. – Arch. Ges. Virus-forsch. 18: 8–15.
2. ASPÖCK H. & CH. KUNZ (1968): Isolierung des Čalovo- (=Batai=Chitoor-) Virus aus Stechmücken in Österreich. – Wien. Med. Wschr. 118: 497–498.
3. BÁRDOŠ V. & E. Čupková (1962): The Čalovo virus – the second virus isolated from mosquitoes in Czechoslovakia. – J. Hyg. Epid. 6: 186–192.
4. BÁRDOŠ V. & V. DANIELOVÁ (1959): The Ťahyňa virus – a virus isolated from mosquitoes in Czechoslovakia. – J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol. 3: 264–276.
5. HUBÁLEK Z. (2008): Mosquito-borne viruses in Europe. – Parasitol. Res. (Suppl. 1) 103: S29–S43.

## **The German Arbovirus Surveillance and Mosquito Monitoring Program, 2009 - 2010**

HANNA JÖST<sup>1</sup>, NORBERT BECKER<sup>1</sup>, CHRISTINA CZAJKA<sup>1</sup>, STEPHAN GÜNTHER<sup>2</sup>, JONAS SCHMIDT-CHANASIT<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*German Mosquito Control Association (KABS), Waldsee, Germany;* <sup>2</sup>*Bernhard Nocht Institute for Tropical Medicine, D-20359 Hamburg, Germany*

**Keywords:** arbovirus, Germany, mosquito, Sindbis virus, Batai virus, Usutu virus

The aim of the program is to provide an early warning of the presence of arboviruses in Germany. The program compiles and analyses mosquito and arbovirus data collected over a number of successive years. This will provide a solid base to determine the underlying causes of the seasonal fluctuations in arbovirus activity and the relative abundance of the mosquito vector species. This information can then be used as a basis for vector control programs. During 2009 and 2010 we monitored mosquito vector populations and undertook surveillance of arbovirus activity mostly in South West Germany. Approximately 70,000 mosquitoes were captured and assayed for the presence of arboviruses. In 2009, Sindbis virus (SINV) and Batai virus (BATV) were isolated from *Culex* spp. and *Anopheles maculipennis s.l.*, respectively. The highest SINV infection rate (4.9) in the *Culex* mosquitoes was in the beginning of July. Phylogenetic analysis of the German SINV strains linked them with Swedish SINV strains, the causative agent of Ockelbo disease in humans. Analysis of partial S, M, and L segments of the German BATV strain showed that the sequences from all three segments were most closely related to BATV, indicating that the virus has not undergone reassortment. In contrast, only Usutu virus (USUV) was isolated in 2010 from *Culex pipiens pipiens* and demonstrated to be related to USUV strains circulating in Austria. Further studies have to be conducted to estimate the veterinary and medical importance of SINV, BATV and USUV in the affected areas.

## Mosquito Abundance and Diversity of Arboviruses in Rainforest Edge Habitats of Kibale National Park, Uganda

MARCO MARKLEWITZ<sup>1</sup>; THOMAS R. GILLESPIE<sup>2</sup>; FABIAN H. LEENDERTZ<sup>3</sup>; CHRISTIAN DROSTEN<sup>1</sup> and SANDRA JUNGLEN<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Virology, University of Bonn Medical Centre, Bonn, Germany

<sup>2</sup> Department of Environmental Studies, Emory University, Atlanta, USA

<sup>3</sup> Research Group Emerging Zoonoses, Robert Koch-Institute, Berlin, Germany

The emergence of novel pathogenic RNA viruses, transmitted by blood-feeding arthropods, has a significant impact on global economies and public health. It is still unclear which mechanisms may facilitate viruses to escape their enzootic amplification cycles and enable infection of urban mosquito species and humans.

Based on a collection of 807 mosquitoes trapped along an anthropogenic disturbance gradient in the area of the Kibale National Park, mosquito- and concomitant virus abundance was investigated. Mosquito species were morphologically identified and analyzed for presence of viruses by PCR and cell culture. In total 38 mosquito species comprising 12 different genera have been detected. Mosquito diversity in rainforest areas is two third higher than in anthropogenic disturbed habitat types. In contrast, 8 mosquito species were exclusively found in anthropogenic disturbed areas, which points towards a shift in mosquito species composition. Some species, like *Culex nebulosus*, were found with a threefold higher abundance in anthropogenic disturbed areas. *Toxorhynchites brevipalpis* mosquitoes and 6 further mosquito genera were only found in primary forest. Almost 40% of trapped mosquitoes were identified as species belonging most likely to genus *Lutzia* spp. Only one species of genus *Lutzia* - *Lutzia trigripes* - has been described for Uganda. All trapped mosquitoes were clearly different from the described *Lutzia trigripes* species suggesting the finding of 3 novel *Lutzia* species.

Virus isolation attempts revealed 33 of 81 mosquito pools inducing cytopathic effects (CPE) on insect cells. So far 15 novel insect-restricted flaviviruses were detected by PCR. The putative viruses in the remaining 18 pools as well as possible multiple infections have to be identified. First analysis of mosquito abundance and concomitant viral infection patterns revealed a higher density but a lower diversity in anthropogenic disturbed areas compared to natural habitats. Putative spreading of these viruses from natural to modified habitat types will be investigated.

# Genetic Diversity and Dilution Effects During Virus Emergence from Pristine to Modified Landscapes

F. ZIRKEL<sup>1,2,3\*</sup>, M. MARKLEWITZ<sup>1\*</sup>, A. KURTH<sup>4</sup>, P.L. QUAN<sup>2</sup>, T. BRIESE<sup>2</sup>, H. ELLERBROK<sup>4</sup>, G. PAULI<sup>4</sup>, W.I. LIPKIN<sup>2</sup>, J. ZIEBUHR<sup>5</sup>, F.H. LEENDERTZ<sup>3</sup>, C. DROSTEN<sup>1</sup> and SANDRA JUNGLÉN<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Virology, University of Bonn Medical Centre, Bonn, Germany*

<sup>2</sup>*Center for Infection and Immunity, Mailman School of Public Health, Columbia University, New York, USA*

<sup>3</sup>*Research Group Emerging Zoonoses, Robert Koch-Institute, Berlin, Germany*

<sup>4</sup>*Center for Biological Safety, Robert Koch-Institute, Berlin, Germany*

<sup>5</sup>*Institute of Medical Virology, Justus Liebig University Giessen, Gießen, Germany*

\**contributed equally*

Tropical rainforests show the highest level of terrestrial biodiversity and may be an important contributor to microbial diversity. Exploitation of these ecosystems may foster the emergence of novel pathogens.

We studied variation in mosquito distribution and mosquito-associated viruses along an anthropogenic disturbance gradient in Côte d'Ivoire. *Anopheles*, *Aedes*, and *Culex* mosquitoes were significantly more abundant in modified habitat types ( $p < 0.029$ ). Investigating concomitant viral infections revealed an extremely high diversity of 7 previously unknown RNA viruses belonging to the families Bunyviridae, Flaviviridae, Reoviridae, and Rhabdoviridae, as well as to the order Nidovirales. General virus abundance and diversity was examined along the gradient displaying a decrease in diversity and an increase in prevalence for 6 of the 7 viruses from natural to modified habitat types ( $p < 0.001$ ). Phylogenetic analyses indicated ancestral relationship of the 7 viruses to established virus groups suggesting that tropical ecosystems may contain a larger spectrum of viruses than currently known from epidemic isolates. Further full genome sequencing and molecular characterization lead to the discovery of the first insect-associated nidovirus (Cavally virus, CAVV) that is likely to represent a novel family within the order *Nidovirales*, and of 2 prototypic bunyaviruses (Gouléako virus, GOUV, and Herbert virus, HERBV) that may constitute two novel bunyavirus genera. CAVV was isolated with a prevalence of 9.3% in all habitat types along the gradient. Analysis of habitat-specific virus diversity and ancestral state reconstruction demonstrated an origin of CAVV in pristine rainforest with subsequent spread into agriculture and human settlements. CAVV extension from the forest was associated with a decrease in virus diversity ( $p < 0.01$ ) and an increase in virus prevalence ( $p < 0.00001$ ). GOUV and HERBV were detected with a prevalence of 6.5 % and there is preliminary evidence that several isolates are also evading the forest zone. Knowledge on the biological mechanisms behind ecosystem modification and arbovirus emergence could provide innovative approaches for epidemic risk assessment and intervention strategies.

## **Konflikt Stechmückenkontrolle und Naturschutz - Am Beispiel des Nationalparks Niedersächsisches Wattenmeer**

RENKE LÜHKEN & ELLEN KIEL

*AG Gewässerökologie und Naturschutz, Institut für Biologie und Umweltwissenschaften, Fakultät V, Carl von Ossietzky Universität, D-26111 Oldenburg, renke.luehken@uni-oldenburg.de, ellen.kiel@uni-oldenburg.de*

In den Jahren 2004, 2006 und 2007 traten erstmals starke Stechmückenplagen im niedersächsischen Küstenraum und vor allem den Ostfriesischen Inseln auf. Diese hatten insbesondere zur Folge, dass die gastronomischen Betriebe ihren Außenbetrieb nicht wie gewöhnlich nutzen konnten. Es wurde befürchtet, dass zukünftige Plagen einen signifikant negativen Einfluss auf den Tourismus haben könnten, der mit über 10 Millionen Übernachtungsgästen pro Jahr eine herausragende wirtschaftliche Größe im niedersächsischen Küstenraum darstellt.

Entsprechend wurden schon kurz nach den ersten Plageereignissen Bekämpfungsmaßnahmen von Seiten der Bevölkerung und besonders des Tourismus gefordert. Aufgrund der mangelhaften Untersuchungssituation, konnten zu diesem Zeitpunkt jedoch weder Plageart noch Brutgewässer benannt werden. Daher waren wissenschaftlich fundierte Aussagen zu Kontrollmaßnahmen nicht möglich.

Unsere Studien auf den Ostfriesischen Inseln und dem Festland konnten die Plageart und die bedeutenden Brutgewässer identifizieren. Dabei zeigte sich, dass die Gewässer überwiegend in den Schutzgebieten des Nationalparks Niedersächsisches Wattenmeer liegen und hier besonders in der Kernzone, der höchsten Schutzkategorie des Nationalparks, sehr häufig gefunden werden konnten. Für zukünftige Plageereignisse stellt sich hierbei insbesondere die Frage, ob und welche Bekämpfungsmaßnahmen in diesem ökologisch hochsensiblen Gebiet ergriffen werden könnten. Diese sollen in diesem Vortrag diskutiert werden.



## **Techniken zum Sammeln von Culiciden im Feld: Vor- und Nachteile der unterschiedlichen Beprobungsmethoden für Eier, Larven und Adulte.**

MARTIN GEIER, A. ROSE und U. OBERMAYR

*Biogents AG, Weißenburgstr. 22, 93055 Regensburg*

Um Informationen über (1) das Vorkommen und die Verbreitung von Culiciden, (2) die jeweiligen Populationsdichten und (3) mögliche Krankheitsübertragungen zu gewinnen, müssen repräsentative Stichproben der jeweils vorhandenen Stechmückenpopulationen genommen werden. Zur Erhebung dieser Stichproben werden in und an Gewässern die Eier, Larven und Puppen sowie an Land die flugfähigen Adulten mit verschiedenen Methoden gesammelt. Die Aussagekraft einer Studie hängt dabei in besonderem Maße von der jeweils verwendeten Methode ab. Da finanzielle und personelle Ressourcen stets begrenzt sind, erfolgt in der Praxis meist eine Abwägung von dem zugrundeliegenden Aufwand und der Qualität der genommenen Probe. Hier spielt die genaue Fragestellung der Untersuchung eine entscheidende Rolle. Je gezielter die Fragestellung ist, desto selektiver kann die Beprobungsmethode sein und umgekehrt.

Bei der Suche nach Larven oder Puppen in potenziellen Brutgewässern werden Proben mit Schöpfgefäßen oder Netzen aus den vorhandenen Gewässern genommen. Mückeneier werden mit Hilfe von sogenannten Ovitrapps gesammelt. Dies sind kleine künstliche Brutstätten, an denen gravide Stechmückenweibchen ihre Eier ablegen können. Die adulten, flugfähigen Stechmücken können mit verschiedenen Methoden gesammelt werden: a) an ihren Ruheplätzen werden sie mit Hilfe von starken Handstaubsaugern in ein Fangnetz gesaugt, b) die wirtssuchenden Weibchen werden am Menschen mit Netzen, Exhaustoren oder anderen Gefäßen eingefangen, c) die in der Luft befindlichen Mücken werden mit beweglichen Fangnetzen aktiv eingefangen, oder d) die umherfliegenden Mücken werden mit verschiedenen Reizen zu einer Falle gelockt und dort meist mit Hilfe eines Ventilators eingesaugt.

Die Vor- und Nachteile dieser verschiedenen Methoden werden kurz vorgestellt und im Hinblick auf deren Aussagekraft für verschiedene Fragestellungen diskutiert. Die Methoden werden auch im Hinblick auf den notwendigen zeitlichen, personellen und finanziellen Aufwand bewertet. Neben der Vorstellung der klassischen Methoden wird vor allem auch auf neuere Entwicklungen auf diesem Gebiet eingegangen.

## **Drei Jahre Ovitrap-Monitoring in Hamburg: ein Zwischenstand**

A. KRÜGER<sup>1</sup>, A. PLENGE-BÖNIG<sup>2</sup>, U. SELLENSCHLO<sup>2</sup>, U. BRADERSEN<sup>3</sup>

*1 TE Entomologie, FB Tropenmedizin des BwKrhs Hamburg am BNI, Bernhard-Nocht-Str. 74, 20359 Hamburg*

*2 Abt. für Hygiene, Gebiet Städtehygiene und Vektorepidemiologie, Institut für Hygiene und Umwelt, Marckmannstr. 129 a, 20539 Hamburg*

*3 Umweltmanagement, Zentralbereich Umwelt, Flughafen Hamburg GmbH, Flughafenstr. 1-3, 22335 Hamburg*

Hamburg, das “Tor zur Welt”, kann als einer der wichtigsten Risikostandorte in Deutschland bezüglich der möglichen Einschleppung exotischer Stechmücken angesehen werden. Um eine frühzeitige Detektion sicherzustellen, wurde sukzessive ein Monitoring-Schema implementiert, das verschiedene Bereiche des internationalen Güter- und Warenverkehrs abdeckt: im Blumen-Großmarkt (Hafen, ab 2009), am Flughafen Hamburg sowie an der BAB-Raststätte Stillhorn (ab 2010) und in einem privaten Blumen-Großhandel (ab 2011). Insgesamt werden dafür momentan 41 Ovitrap sowie 2 BG-Sentinel-Fallen (nur in den Blumenmärkten) verwendet.

Bislang konnten keine exotischen Stechmücken gefunden werden. Allerdings wurden im Juni 2011 in 3 Ovitrap im Blumen-Großmarkt etwa 30 vereinzelte Mückeneier entdeckt, die von der Ablageformation her an *Aedes/Stegomyia* erinnerten. Durch Aufzucht von ca. 20 Individuen gelang letztlich die zweifelsfreie Identifizierung als *Culex torrentium*.

An einem der Flughafen-Standorte wurden zudem wiederholt tote Adulte sowie Eischiffchen von *Culex pipiens* nachgewiesen.

Im Hinblick auf zukünftige Mückenerfassungs-Projekte werden einige praktische Erfahrungen und Tipps vermittelt, z.B. zu den Zutritts- und Sicherheitsauflagen am Flughafen.

## **Surveillance of the invasive and established species *Ochlerotatus japonicus japonicus* in South Germany**

KATRIN HUBER<sup>1,2</sup>, ARTUR JÖST<sup>1</sup>, BJÖRN PLUSKOTA<sup>1,2</sup> AND NORBERT BECKER<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*German Mosquito Control Association (KABS/GFS), Ludwigstr. 99, 67165 Waldsee, Germany,* <sup>2</sup>*University of Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 230, 69120 Heidelberg, Germany*

Increased transcontinental mobility of humans as well as the international trade, facilitate the dispersal and in some cases, the establishment of exotic mosquito species into other countries with favourable climatic conditions. Therefore, in 2005 we started an extensive monitoring program relating to the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus* and in 2009 we initialized a special larval surveillance program concerning the distribution of the Asian bush mosquito, *Oc. j. japonicus* and its development in the course of the year. We investigated cemeteries, used tyres, rain water basins and other water filled containers of 154 municipalities near the Swiss border and found an area of about 2.200 km<sup>2</sup> infested by this invasive species. In 2011 we expanded our monitoring program to the whole of Baden-Württemberg and detected a second hot spot of *Oc. j. japonicus* near the city of Stuttgart of about 4.000 km<sup>2</sup>.

According to the known ability of this species to spread rapidly within a very short time and its high vectorial capacity for multiple emerging arboviruses, it is of utmost importance to develop suitable control strategies as quickly as possible. First initiatives will be launched by the KABS in spring 2012.

## **Functional Analyses of Flavi- and Alphaviral Proteins Using Reverse Genetics**

BEATE M. KÜMMERER, MELVIN SCHLEIF, SABINE GLÄSKER, JANETT WIESELER, KLAUS GRYWNA, CHRISTIAN DROSTEN

*Institute of Virology, University of Bonn Medical Centre, 53127 Bonn, Germany*

One way to study functions of viral proteins is to take advantage of reverse genetic systems. In our laboratory, infectious full length clones of two flaviviruses (yellow fever virus (YF) and dengue virus (DEN)) and two alphaviruses (Chikungunya virus (CHIKV) and Sindbis virus) are available, which enable us to produce recombinant viruses *in vitro*. One topic in our laboratory is the functional analysis of YF NS4B by charged-to-alanine scanning analysis. Using these mutants, experiments involving the rescue and analysis of second site mutations as well as studies comparing NS4B mutants in interferon deficient cells (BHK) versus interferon competent cells (A549) have been performed so far. For DEN one NS4B mutant was found to decrease replication efficiency in C6/36 cells and mosquitoes while enhancing replication in Vero cells and SCID-HuH-7 mice, suggesting a role for NS4B in maintaining the balance between efficient replication in the mosquito vector and the human host. Therefore we are also interested to analyse the growth of our NS4B mutants in insect cells and mosquitoes in the future.

In addition, we established an infectious full-length clone of CHIKV derived from a patient isolate obtained during the outbreak in Mauritius in 2006. Introduction of a gene encoding the green fluorescent protein into the non-structural protein nsP3 resulted in viable virus expressing EGFP. Such virus might also represent a useful tool to track virus spread in mosquitoes.

Furthermore, using our infectious CHIKV full-length clone, we are interested to identify sequence elements that alter vector competence. To this end, we plan to recover recombinant viruses containing mutations obtained after serial passage in specific mosquitoes. In addition chimeras between CHIKV and other alphaviruses will be constructed. Recombinant viable mutants shall be analysed for growth characteristics in cell culture and in different mosquitoes to define sequence elements important for vector competence.

## **A Dicistrovirus-Specific Inducible Antiviral Response in *Drosophila***

CORDULA KEMP<sup>1,\*</sup>, STEFANIE MUELLER<sup>1,\*</sup>, AKIRA GOTO<sup>1</sup>, VINCENT BARBIER<sup>1</sup>, CATHERINE DOSTERT<sup>1</sup>, LAURENT TROXLER<sup>1</sup>, CHARLES HETRU<sup>1</sup>, JULES A. HOFFMANN<sup>1</sup>, JEAN-LUC IMLER<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*CNRS-UPR9022; Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire; Strasbourg, France*

<sup>2</sup>*Faculté des Sciences de la Vie; Université de Strasbourg; Strasbourg, France*

\* *Equal contribution*

The fruit fly *Drosophila melanogaster* is a good model to unravel the molecular mechanisms of innate immunity, and has led to some important discoveries on the sensing and signalling of microbial infections. The response of *Drosophila* to virus infections remains poorly characterized, and appears to involve two facets. On one hand RNA interference (RNAi) involves the recognition and processing of dsRNA into small interfering (si) RNAs by the host ribonuclease Dicer-2 (Dcr-2), whereas on the other hand an inducible response controlled by the evolutionarily conserved JAK/STAT pathway contributes to the antiviral host defence. In order to clarify the contribution of the siRNA and JAK/STAT pathways to the control of viral infections, we have compared the resistance of flies wild-type or mutant for Dcr-2 or the JAK kinase Hopscotch (Hop) to infections by seven RNA or DNA viruses belonging to different families. Our results reveal a unique susceptibility of *hop* mutant flies to infection by DCV and CrPV, two members of the Dicistroviridae family. Genome-wide microarray analysis confirmed that different sets of genes were induced following infection by DCV or two unrelated RNA viruses, FHV and SINV. Overall, our data reveal that RNAi is an efficient antiviral mechanism, operating against a large range of viruses, including a DNA virus. By contrast, the antiviral contribution of the JAK/STAT pathway appears to be virus-specific.

## **Prävalenz von humanpathogenen Mikroorganismen in Zecken – ein Vergleich zwischen *Ixodes ricinus* und *Ixodes persulcatus***

FRANZISKA STÜRZL<sup>1,2</sup>, MANDY KRONEFELD<sup>1,2</sup>, JENS AMENDT<sup>1,2</sup>, ZHANNA SHAPIYEVA<sup>1,3</sup>,  
ULRICH KUCH<sup>1</sup>, PETER KRAICY<sup>1,4</sup>, RICHARD ZEHNER<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Biodiversität und Klima Forschungszentrum (BiK-F), Frankfurt/Main, Deutschland

<sup>2</sup> Institut für Rechtsmedizin Klinikum der Goethe-Universität, Frankfurt/Main, Deutschland

<sup>3</sup> Head Centre for Sanitary-Epidemiological Expertise and Monitoring, Department of Parasitology, Almaty, Kazakhstan,

<sup>4</sup> Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene, Klinikum der Goethe-Universität, Frankfurt/Main, Deutschland

Zecken (Ixodida) gelten als Überträger einer Vielzahl human- und veterinärpathogener Mikroorganismen wie Bakterien, Viren oder Protozoen. Bei dem für ihren Entwicklungszyklus wichtigen Saugakt können Pathogene von Reservoirwirten aufgenommen bzw. Wirtstiere infiziert werden. Folglich stellen sie ein Risiko für Mensch und Tier dar.

In Mitteleuropa stellt der Gemeine Holzbock (*Ixodes ricinus*) die häufigste Zeckenart dar. Er gilt als Hauptvektor der Borrelien der Lyme-Borreliose (LB)-Gruppe und des zentraleuropäischen Subtyps des Frühsommer-Meningo-Enzephalitis (FSME)-Virus. Als Vektor des sibirischen bzw. fernöstlichen Subtyps des FSME-Virus wird *Ixodes persulcatus* angesehen, der grundsätzlich in Osteuropa und Asien beheimatet ist, jedoch sich immer mehr in Europa ausbreitet. *Ixodes persulcatus* kann neben dem für ihn spezifischen FSME-Subtyps auch den zentraleuropäischen Subtyp übertragen.

Für den Vergleich der Prävalenz der Humanpathogene in den genannten Zeckenarten wurden 659 nüchterne adulte *Ixodes persulcatus* (Ost-Kasachstan) und ca. 1700 Adulti und Nymphi von *Ixodes ricinus* (Rhein-Main-Gebiet; 1 FSME-Risikogebiet & 1 nicht FSME-Risikogebiet) untersucht.

Bei den *Ixodes persulcatus* aus Ost-Kasachstan zeigte sich insgesamt eine Prävalenz von 2,58 % für das FSME-Virus und 33,84 % für *Borrelia* sp. (60,98 % *Borrelia garinii*; 21,97 % *Borrelia afzelii*; 17,04 % bislang unbestimmt).

*Ixodes ricinus* - Studien aus 2009 aus dem Rhein-Main-Gebiet zeigte eine Prävalenz von 0 % bzw. 0,2 % für das FSME-Virus sowie 9,8 % bzw. 13,77 % für *Borrelia* sp. (70 - 80 % *Borrelia afzelii*; 11 - 29 % *Borrelia garinii*). Der Vergleich der Sammelgebiete und neue Ergebnisse aus 2011 werden diskutiert.

## **Mögliche Risikogebiete für die weitere Etablierung von *Aedes albopictus* unter besonderer Berücksichtigung der Wintertemperaturen**

STEPHANIE THOMAS<sup>1</sup>, ULLA OBERMAYER<sup>2</sup>, DOMINIK FISCHER<sup>1</sup>, CARL BEIERKUHNLEIN<sup>1</sup>

*1 Lehrstuhl Biogeografie, Universität Bayreuth, 95440 Bayreuth*

*2 Biogents AG, Lehrstuhl Zoologie, Universität Regensburg, 93053 Regensburg*

Die ursprünglich subtropisch-tropisch verbreitete Asiatische Tigermücke (*Aedes albopictus*) hat sich in den letzten Jahrzehnten weltweit massiv ausgebreitet. Als Vektor von über zwanzig Arboviren (u.a. Dengue und Chikungunya) und zwei Diofilarien erfährt diese Stechmückenart besondere Beachtung. In Europa ist sie heute vor allem in Italien und den küstennahen Gebieten der Mittelmeer-Anreinerstaaten verbreitet. Die Ermittlung der klimatischen Nische von *Aedes albopictus* anhand weltweiter Vorkommenspunkte ermöglicht es, weitere Gebiete klimatischer Eignung für diese Art aufzuzeigen und mithilfe von Klimaprojektionen auch die zeitliche Entwicklung unter Klimawandelbedingungen darzustellen (1). Gleichzeitig kann auch mit einer Zunahme thermisch geeigneter Gebiete für die Dengue-Virus Amplifikation in Europa - hier wird insbesondere Spanien betroffen sein - im Verlauf dieses Jahrhunderts gerechnet werden (2). Vor dem Hintergrund der ersten autochthonen Dengue Fälle in Frankreich und Kroatien (2010) und der Chikungunya Epidemie in Italien (2007) ist die Kontrolle bestehender und das rechtzeitige Erkennen sich neu etablierender Mückenpopulationen von großer Bedeutung. Während die Einschleppung der Tigermücke meist als Eier oder Larven mit dem globalen Transport von Waren erfolgt, hängt die mögliche Etablierung der Art vor allem von den klimatischen Bedingungen vor Ort ab. Dabei kommt der Temperatur eine besondere Bedeutung zu: Die Tigermücke kann unter kühleren Bedingungen und entsprechender Verkürzung der Photoperiode Diapause-Eier ablegen. Diese gelten als besonders widerstandsfähig gegenüber klimatischen Umwelteinflüssen. Dabei ist die Frosttoleranz entscheidend für eine mögliche dauerhafte Ansiedlung der Tigermücke in höheren Breiten.

Eier temperater und tropischer Herkunft werden daher unterschiedlich starken und zeitlich variierenden Forstereignissen ausgesetzt und anschließend deren Schlupfrate bestimmt. Während Mückeneier tropischer Herkunft einen vierundzwanzigstündigen Frost von bis zu -2 °C ertragen, schlüpfen Diapause-Eier temperater Herkunft auch noch nach 24 Stunden bei -10 °C. Bei kurzfristigen Forstereignissen (eine Stunde) können Letztere sogar Temperaturen von -12 °C überstehen. Diese Ergebnisse unterstützen die Ermittlung potentieller zukünftiger Risikogebiete für die Etablierung von *Aedes albopictus* in Europa.

(1) FISCHER, D; THOMAS, S; NIEMITZ, F; REINEKING, B; BEIERKUHNLEIN, C (2011): Projection of climatic suitability for *Aedes albopictus* Skuse (Culicidae) in Europe under climate change conditions. *Global and Planetary Change*, 78(1-2), 54-64.

(2) THOMAS, S; FISCHER, D; FLEISCHMANN, S; BITTNER, T; BEIERKUHNLEIN, C (2011): Risk assessment of dengue virus amplification in Europe based on spatio-temporal high resolution climate change projections. *Erdkunde*, 65(2), 137-150.

## **Advanced Method for Evaluation of the Residual Efficacy of Products to Control *Cimex lectularius* (Hemiptera: Cimicidae)**

BIRGIT HABEDANK, BIRGIT SNELINSKI, MICHAEL REINSCH, and JUTTA KLASSEN

*Federal Environment Agency (FEA), Sect. IV 1.4, Corrensplatz 1, 14195 Berlin, Germany*

In order to avoid treatment failures in bed bug control and to prevent the development of insecticide-resistant bed bug strains, laboratory efficacy tests of products for bed bug control must be adapted more to practical conditions. For our study, *Cimex lectularius* of the insecticide susceptible laboratory strain of the FEA served as test animals. The bed bugs were fed on rabbits once a week. Juvenile *Cimex lectularius* after 4 and adults after 6 blood feedings were used for the efficacy tests. For efficacy evaluation, insecticidal formulations containing pyrethroids, carbamate or pyrrol were used according to the instructions for use. The test products were applied to 3 different types of surfaces: Hornitex™ (non-sorptive surface), plywood and wallpaper (surfaces of different sorption). Test animals were exposed to treated surfaces for at minimum five different exposure times (e.g. 5, 15, 30, 60 and 180min) to simulate different exposure conditions. The efficacy of several insecticides declined at shorter exposure times. Only one pyrethroid formulation showed 100% mortality of adult and juvenile bed bugs at all tested exposure times on all test surfaces. Standard rearing conditions and defined age of test animals revealed reproducible efficacy results. The test results showed that it is important for the practical use of tested products, even if they are used according to the instructions for use, to know the range of efficacy in different application conditions, e.g. in dependence of the exposure time of bed bugs and the types of surfaces. Thus, application of a product can be optimized and treatment failures can be avoided.

Key Words: Insecticides, pyrethroid, carbamate